imWilms1

300412

INFORMATIONS GÉNÉRALES

Description

La lignée cellulaire Wilms1 a été dérivée à l'origine d'une tumeur de Wilms primaire, obtenue à partir d'un patient chez qui l'on a diagnostiqué de grandes tumeurs rénales bilatérales, une présentation caractéristique de la tumeur de Wilms (néphroblastome). Cette lignée cellulaire est porteuse d'une mutation homozygote non-sens dans le gène WT1 (c.149 C>A, p.S50X), qui entraîne la production d'une protéine WT1 tronquée et non fonctionnelle. WT1 est un gène critique dans le développement du rein, et sa mutation est étroitement associée à la pathogenèse de la tumeur de Wilms, en particulier dans les tumeurs présentant une différenciation stromale. Les cellules Wilms1 présentent un caryotype stable sans anomalie chromosomique significative et se caractérisent par un phénotype mésenchymateux, exprimant la vimentine tout en étant dépourvues de marqueurs épithéliaux tels que la cytokératine. La lignée présente une capacité limitée mais significative de différenciation mésenchymateuse, y compris la possibilité de se différencier en cellules musculaires dans des conditions spécifiques, ce qui en fait un modèle crucial pour l'étude des conséquences moléculaires des mutations WT1.
Pour surmonter la durée de vie limitée des cellules Wilms1 primaires, la lignée cellulaire imWilms1 a été établie en introduisant un triple mutant de l'antigène SV40 large T (U19dl89-97tsA58) dans les cellules tumorales d'origine, facilitant ainsi leur immortalisation. Cette modification permet aux cellules imWilms1 de proliférer indéfiniment tout en conservant une stabilité chromosomique, offrant ainsi un modèle fiable pour des études à long terme. Les cellules imWilms1 immortalisées continuent à présenter la même mutation WT1 et conservent les caractéristiques mésenchymateuses de la lignée Wilms1 mère.
Outre ses caractéristiques génétiques et phénotypiques, la lignée cellulaire imWilms1 a fait l'objet d'une analyse approfondie de l'activité de ses voies de signalisation. Des études protéomiques ont révélé la phosphorylation et l'activation de plusieurs récepteurs tyrosine kinases (RTK), notamment l'EGFR, le PDGFRβ et l'AXL, avec une activation en aval des voies de signalisation MAPK. L'activation constante de ces voies dans les cellules imWilms1 souligne leur importance pour l'exploration de stratégies thérapeutiques ciblées dans la tumeur de Wilms. Dans l'ensemble, imWilms1 constitue un modèle robuste et à long terme pour l'étude des mécanismes moléculaires qui sous-tendent le développement et la progression des tumeurs de Wilms, en particulier celles qui sont induites par des mutations de WT1 et des voies de signalisation aberrantes.

Tissu	Rein
Maladie	Tumeur de Wilms

Synonymes

- IM-WT-1

CLASSIFICATION

Organisme	Humain
Sexe	Femme
Propriétés de croissance	Adepte
Statut OGM	GMO-S1

Informations détaillées sur le statut OGM

GMO-S1: This imWilms1 human Wilms tumor line contains a triple-mutant SV40 T-antigen cassette enabling conditional immortalization for nephroblastoma research. This classification applies only within Germany and may differ elsewhere.

Niveau de biosécurité	1

CARACTÉRISTIQUES

Morphologie	En forme de fuseau

Cytion GmbH
Nikola-Tesla-Str. 3
69124 Heidelberg
Tel: +49 (0)6221 405780
info@cytion.com
cytion.com

Registered office Heidelberg
VAT ID: DE283292917
Local court Mannheim - HRB 714394
CEO / Geschäftsführer: Jonathan Steubing

Banking information
Sparkasse Heidelberg
IBAN: DE35 6725 0020 0009 2076 86
BIC: SOLADES1HDB

Type de cellule	Cellules de Wilms

IDENTIFIANTS

Référence

imWilms1 (numéro de catalogue Cytion 300412)

Numéro d'identification fiscale NCBI	9606
Cellosaurus	CVCL_A5SN

EXPRESSION ET SENSIBILITÉ

Profil mutationnel

Statut de la mutation WT1 : homozygote c. 149 C>A, p.S50x, LOH : 11p11-11pter, statut de la mutation CTNNB1 : hétérozygote TCT>TTT, p.S45F

MANIPULATION ET CULTURE

Milieu de culture

Kit MSCGM (de Lonza)

Atmosphère d'incubation	37°C, 5%CO2, atmosphère humidifiée.
Réactif de dissociation	Accutase

Repiquage

Retirer l'ancien milieu des cellules adhérentes et les laver avec du PBS dépourvu de calcium et de magnésium. Pour les flacons T25, utiliser 3-5 ml de PBS, et pour les flacons T75, 5-10 ml. Ensuite, recouvrir complètement les cellules avec Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laisser les cellules incuber à température ambiante pendant 8-10 minutes pour les détacher. Après incubation, mélanger délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifuger à 300xg pendant 3 minutes. Jeter le surnageant, remettre les cellules en suspension dans du milieu frais et les transférer dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.

Renouvellement des fluides	1 à 2 fois par semaine

Décongélation et mise en culture

Confirm that the vial remains deeply frozen upon delivery, as cells are shipped on dry ice to maintain optimal temperatures during transit.
Upon receipt, either store the cryovial immediately at temperatures below -150°C to ensure the preservation of cellular integrity, or proceed to step 3 if immediate culturing is required.
For immediate culturing, swiftly thaw the vial by immersing it in a 37°C water bath with clean water and an antimicrobial agent, agitating gently for 40-60 seconds until a small ice clump remains.
Perform all subsequent steps under sterile conditions in a flow hood, disinfecting the cryovial with 70% ethanol before opening.
Carefully open the disinfected vial and transfer the cell suspension into a 15 ml centrifuge tube containing 8 ml of room-temperature culture medium, mixing gently.
Centrifuge the mixture at 300 x g for 3 minutes to separate the cells and carefully discard the supernatant containing residual freezing medium.
Gently resuspend the cell pellet in 10 ml of fresh culture medium. For adherent cells, divide the suspension between two T25 culture flasks; for suspension cultures, transfer all the medium into one T25 flask to promote effective cell interaction and growth.
Adhere to established subculture protocols for continued growth and maintenance of the cell line, ensuring reliable experimental outcomes.

CONTRÔLE QUALITÉ ET CRYOCONSERVATION

Stérilité

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes basées sur la luminescence.
Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.

Milieu de congélation	Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (comprenant du FBS) + 10 % de DMSO pour une viabilité adéquate après décongélation, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui comprend des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryogénisation.

Conditions de stockage

Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Conditions de livraison

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

DONATEUR

Âge du donneur	10 mois
Origine ethnique	Caucasien

ASPECTS JURIDIQUES ET SÉCURITÉ

Consignes de sécurité

Lorsque l'on envisage de stocker un cryovial dans l'azote liquide en vue d'une décongélation ultérieure, il est obligatoire de respecter des mesures de sécurité rigoureuses. Des gants et des vêtements de protection appropriés sont indispensables, et l'utilisation d'un masque facial ou de lunettes de sécurité est requise pendant le transfert des échantillons congelés vers ou depuis le réservoir d'azote liquide. Ceci afin de réduire le risque de blessures dues à l'explosion potentielle des cryoviaux lors de leur retrait, qui peut entraîner la projection de fragments tranchants.

Garantie

Chez Cytion, nous nous portons garants de la qualité et de la viabilité de nos produits.
Nous garantissons que nos cellules seront viables au début de la culture pendant 60 jours après l'expédition de nos installations.
Nous assurons que tous les matériaux sont conformes aux spécifications décrites dans le certificat d'analyse et/ou la fiche produit
Pour plus de détails, veuillez consulter notre <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default""> Déclaration de garantie

Un accord de transfert de matériel est requis	Yes